5. Студентов А.П. Ветеринарное акушерство, гинекология и биотехника размножения / А.П.Студенцов, М.Колос, 2000.

6. Шипилов В.С. Способ подготовки быков и баранов – пробников / В.С.Шипилолв, Т.Р.Лещенко, Р.А.Васильев // Ветеринария, 1991.-№6.-С.48-49.

Контактная информации об авторах для переписки

**Лещенко Татьяна Радьевна** – доцент кафедры акушерства и хирургии ДонГАУ, кандидат ветеринарных наук, ул. Ростовская 16, пос. Персиановский Октябрьского района Ростовской области, Российская Федерация, 346493. тел. 8-950-866-21-92.

**Уланов Игорь Владимирович** – аспирант кафедры акушерства и хирургии ДГАУ, ул. Молодёжная 25, кв.2, хутор Мокрый Гашун Зимовниковского района Ростовской области, Российская Федерация, 347453.

**Михайлова Ирина Ивановна** – доцент кафедры акушерства и хирургии ДонГАУ, кандидат ветеринарных наук, ул. Южная 2В, пос. Персиановский Октябрьского района Ростовской области, Российская Федерация, 346493. тел. 8-928-167-38-86.

**Войтенко Любовь Геннадьевна**- доцент кафедры акушерства и хирургии ДонГАУ, кандидат ветеринарных наук, ул. Южная 2Б, пос. Персиановский Октябрьского района Ростовской области, Российская Федерация, 346493. тел 8-908-517-96-25

**Михайлова Олеся Николаевна** – ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и патанатомии ДонГАУ, ул. Южная 2В, пос. Персиановский Октябрьского района Ростовской области, Российская Федерация, 346493. тел.8-951-534-00-40

УДК: 619:616-036.22:578.832.1:636.5(477)

**Музыка Д.В.**

*(Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», Харьков, Украина)*

# ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ПАРАМИКСОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ СРЕДИ ГОЛУБЕЙ В УКРАИНЕ В 2007 – 2011 ГОДАХ

Ключевые слова: парамиксовирусы птиц, вирус болезни Ньюкасла, голубиные парамиксовирусы 1 серотипа.

Введение

Возбудитель инфекции – голубиный вариант парамиксовируса птиц 1 серотипа (ППМВ-1, PPMV-1), который относится к семейству Paramyxoviridae, подсемейству Paramyxovirinae, роду Avulavirus [1]. На сегодняшний день известно 10 серотипов парамиксовирусов птиц (ПМВ-1 – ПМВ-10) [2]. Однако в 2012 году ряд ученых опубликовали результаты исследований, которые свидетельствуют о выявлении 11 серотипа ПМВ [3]. Из всех серотипов особую опасность для птицеводства представляет 1 серотип (ПМВ-1) – вирус болезни Ньюкасла, хотя серотипы ПМВ-2, ПМВ-3, ПМВ-6, ПМВ-7 также могут быть причиной заболевания сельскохозяйственных птиц.

Начиная с 80-х годов прошлого века, для практических целей парамиксовирусы 1 серотипа, выделенные от голубей, стали называть «голубиные парамисковирусы 1 серотипа». В большинстве случаев они ма-

ло чем отличаются от других ПМВ-1. Основные отличия могут быть в антигенных свойствах, которые можно установить в РЗГА с использованием моноклональных сывороток. Важной особенностью может быть тот факт, что ПМВ-1 выделенный от других видов птицы (не кур), является не адаптированным к организму кур и при проверке патогенности по интрацеребральному индексу патогенности на суточных цыплятах может давать ложноотрицательные результаты. Поэтому истинную патогенность можно установить при инфицировании взрослой птицы [4].

Первые вспышки этого заболевания у голубей были зарегистрированы в конце 70-х начале 80-х годов XX века в Азии (Ирак), Европе (Италия, Германия, Франция, Бельгия, Голландия). За короткий промежуток времени заболевание переросло в панзоотию, в которую были вовлечены многие страны. Фактически эта панзоотия продолжается и сейчас, так как и в настоящее время очаги этой инфекции регистрируются повсеместно [5, 6]. Опасность этого заболевания необходимо оценивать с точки зрения того, что на сегодняшний момент голуби являются главным резервуаром высоковирулентных парамиксовирусов 1 серотипа для сельскохозяйственных птиц.

Основной целью наших исследований было проведение эпизоотологического мониторинга парамиксовирусных инфекций у голубей, изучение циркуляции этих вирусов в популяциях голубей в различных регионах, и биологических свойств некоторых вирусов.

Материалы и методы

Для вирусологических исследований использовали патологический материал от клинически больных и павших голубей из разных регионов Украины. Вирусологические исследования проводили с использованием 9-10 куриных эмбрионов по общепринятой методике. Идентификацию проводили в РЗГА с использованием референтных сывороток крови к гриппу птицы подтипов H1-H16 и парамиксовирусов ПМВ-1 – ПМВ-9 (Veterinary Laboratories Agency, Weybridge, UK; Instituto Zooprofilattio Sperimentale delle Venezie, Padova, Italy) по общепринятой методике. Патогенность определяли по интрацеребральному индексу патогенности [4].

Экстракцию нуклеиновых кислот проводили методом аффинной сорбции. Выделение РНК вируса болезни Ньюкасла проводили с использованием наборов «Рибосорб-50», «Рибосорб-100» (ФГУН «ЦНИИЭ», Москва, РФ). Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием наборов «Реверта-L» и «RT-Core» (ФГУН «ЦНИИЭ», Москва, РФ).

Химический сиквенс проводили з использованием праймеров NDV_4331F/5009R и коммерческих наборов AbiPrism Terminator Kit (Applied Biosystems). Анализ продуктов реакции проводили на ДНК анализаторе ABI-3000 (AbiPrism) совместно со специалистами Юго-Восточной лаборатории по болезням птиц (Атен, Джорджия, США). Для дальнейшего анализа использовали программы DNAStar, LaserGene, Clustal W. Филогенетический анализ проведен по методу Neighbor Joining.

Результаты исследований

При проведении вирусологических исследований биологического материала, который был получен от больных голубей из 4 регионов Украины в период с 2007 по 2011 г.г. нами изолировано 11 гемагглютинирующих вирусов. При проведении серологической идентификации в РЗГА все эти изоляты были отнесены к парамиксовирусам 1 серотипа: ПМВ/голубь/Донецк/1/2007, ПМВ/голубь/Донецк/3/2007, ПМВ/голубь/Донецк/ЛП/2009, ПМВ/голубь/Харьков/32/2008, ПМВ/голубь/Харьков/1/2007, ПМВ/голубь/Харьков/2/2007, ПМВ/голубь/Днепропетровск/1-18-11, ПМВ/голубь/Симферополь/1-26-11, ПМВ/голубь/Симферополь/2-26-11, ПМВ/голубь/Укромное/3-26-11, ПМВ/Голубь/Днепропетровск/Pigeon-07/2007. Следующим этапом наших исследований было изучение молекулярно-генетических характеристик, а также определение патогенности этих вирусов. Для дальнейших исследований было выбрано 7 изолятов. По результатам секвенирования установлено, что все изоляты парамиксовирусов 1 серотипа, изолированные от голубей в Украине, относятся ко II классу (таблица 1).

Из общего числа изолятов 4 изолята отнесены ко II генотипу (изоляты: ПМВ/голубь/Донецк/3/2007, ПМВ/Голубь/Днепропетровск/Pigeon-07/2007, ПМВ/голубь/Харьков/1/2007, ПМВ/голубь/Харьков/2/2007). По результатам секвенирования они имеют структуру сайта разрезания белка F, который характерен для низкопатогенных, лентогенных вирусов болезни Ньюкасла. Один изолят парамиксовируса от голубей ПМВ-1/голубь/Симферополь /2-26-11, относится к Ia генотипу и также является лентогенным, что опреде-

Таблица 1

Определение генотипа парамиксовирусов 1 серотипа, выделенных от голубей в Украине в период 2007 – 2011 г.г. по результатам молекулярно-генетических исследований.

| Изолят | Класс | Генотип | Сайт разрезания белка F | Патотип |
|---|---|---|---|---|
| ПМВ-1/ голубь/Донецк/3/2007 | II | II | GKQGRL | Лентогенный |
| ПМВ-1/ голубь/Днепропетровск/Pigeon07/2007 | II | II | GKQGRL | Лентогенный |
| ПМВ-1/ голубь/Харьков /1/2007 | II | II | GKQGRL | Лентогенный |
| ПМВ-1/ голубь/Харьков /2/2007 | II | II | GKQGRL | Лентогенный |
| ПМВ-1/Голубь/Днепропетровск/1-18-11 | II | VI | KRQKRF | Велогенный |
| ПМВ-1/голубь/Симферополь /2-26-11 | II | Ia | GKQGRL | Лентогенный |
| ПМВ-1/голубь/Укромное/3-26-11 | II | VI | KRQKRF | Велогенный |

ляется структурой сайта разрезания белка слияния. Особый интерес представляют два вируса, которые были изолированы от голубей в 2011 году в Днепропетровске и АР Крым (ПМВ-1/Голубь/Днепропетровск/1-18-11, ПМВ-1/голубь/Укромное/3-26-11). Оба изолята относятся к VI генотипу и по структуре сайта разрезания белка F являются велогенными. Также по результатам филогенетического анализа установлено, что они подобны по генетической структуре с голубиными парамиксовирусами Pi/Rus/Kostroma/0843/07 и Pi/Rus/Kemerovo/592-1/05, выделенными в различных регионах Российской Федерации в 2005-2007 годах. Филогенетический анализ представлен на рисунке 1.

После проведения молекулярно-генетических исследований следующей нашей задачей было определение патогенности парамиксовирусов 1 серотипа по индексу интрацеребральной патогенности согласно с требованиями МЭБ. Эти исследования были проведены для вируса ПМВ-1/го-

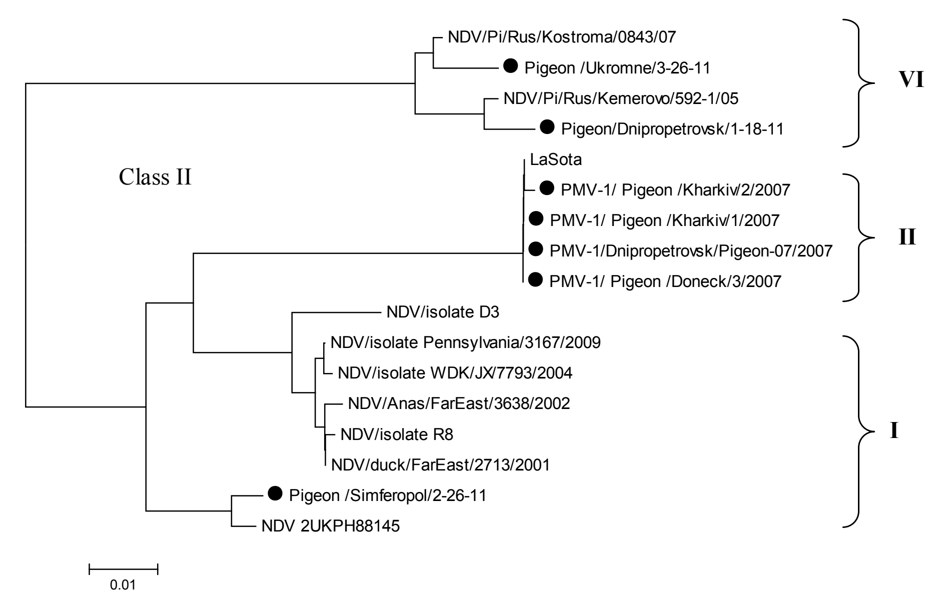



Рисунок 1. Дендрограма генотиповой принадлежности изолятов парамиксовирусов выделенных от голубей в Украине ( ● – украинские изоляты), (NJ, Bootstrap 1000).

лубь/Укромное/3-26-11, который относится к VI генотипу, а также для вируса ПМВ-1/голубь/Харьков/2/2007, который относится ко II генотипу. По результатам определения интрацеребрального индекса установлено, что для вируса ПМВ-1/голубь/Харьков/2/2007 II генотип он составляет 0,0, т.е. этот вирус является низкопатогенным лентогенным вирусом. Для вируса ПМВ-1/голубь/Укромное/3-26-11 индекс интрацеребральной патогенности составляет 0,4, что также относит его к лентогенным вирусам. При анализе полученных данных необходимо также помнить о том, что изоляты вирусов адаптированные и выделенные от других видов птиц могут не показывать их потенциальной вирулентности для цыплят при использовании традиционных тестов патогенности каких как интрацеребральный индекс патогенности.

Выводы:

1. Учитывая тот факт, что парамиксовирусные инфекции птиц представляют большую угрозу для птицеводства в мире, нами проведен эпизоотологический мониторинг голубей как основного резервуара и источника высоковирулентных вирусов для сельскохозяйственной птицы. При проведении вирусологических исследований в период 2007-2011 годов от голубей изолировано 11 парамиксовирусов 1 серотипа.

2. По результатам секвенирования и филогенетического анализа 7 изолятов установлено, что все они относятся ко II классу вирусов болезни Ньюкасла. Из них 4 отнесены ко II генотипу, один - к Ia генотипу, а 2 - к VI генотипу.

3. Установлена патогенность изолятов, которые относятся ко II и VI генотипам. По результатам секвенирования сайта разрезания белка F вирус ПМВ-1/голубь/Харьков/2/2007 (II генотип) относится к лентогенным вирусам, а вирус ПМВ-1/голубь/Укромное/3-26-11 (VI генотип) к велогенным. По результатам определения интрацеребрального индекса патогенности оба эти вируса отнесены к лентогенным вируса.

**Резюме**: В статье представлены результаты эпизоотологического мониторинга голубей в Украине касательно парамиксовирусной инфекции, выделены изоляты вируса и изучены их биологические свойства.

**SUMMARY**

The results of epidemiological monitoring of pigeons in Ukraine against paramyxovirus infection, virus isolates identified and studied their biological properties

Keywords: avian paramyxoviruses, Newcastle disease virus, pigeon paramixoviruses of serotype 1

## Литература

1. Family Paramyxoviridae. Virus taxonomy. [Текст]: 7-th reeport of international committee on taxonomy of viruses / Lamb, R. A., Collins, P. L., Kolakofsky, D., Melero, J. A. et al. - New York: Academac Press. - p. 549-561.

2. Patti J. Miller, Claudio L. Afonso, Erica Spackman, Melissa A. Scott, Janice C. Pedersen, Dennis A. Senne, Justin D. Brown, Chad M. Fuller, Marcela M. Uhart, William B. Karesh, Ian H. Brown, Dennis J. Alexander, David E. Swayne Evidence for a New Avian Paramyxovirus Serotype 10 Detected in Rockhopper Penguins from the Falkland Islands// J Virol. 2010 November; 84(21): 11496–11504.

3. Briand FX, Henry A, Massin P, Jestin V. Complete Genome Sequence of a Novel Avian Paramyxovirus J Virol. 2012 Jul;86(14):7710

4. Newcastle Disease, OIE, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2011 In: World Organization for Animal Health, Paris. 2011.

5. Sharon K. Hietala. Environmental air sampling to detect exotic Newcastle disease virus in two California commercial poultry flocks [Текст] / Sharon K. Hietala, Pamela J. Hullinger, Beate M. Crossley // Jornal. Vet. Invest. – 2005.- 17. – p.198-200.

6. Biancifiori, F. An occurrence of Newcastle disease in pigeons: virological and serological studies on the isolates. [Текст] / Biancifiori, F., Fioroni A. // Comparative immunology, microbiology, and infectious diseases. – 1983. – vol. 16. - p. 247-252

Контактная информации об авторах для переписки

**Д.В. Музыка** - к.в.н., зав. лабораторией эпизоотологии болезней птиц, Национальный научный центр <<Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины>>, Украина, 61023, Харьков, ул. Пушкинская 83, тел. +38057 707-10-90, dmuzyka77@gmail.com